蝶と蛾 *Trans. lepid. Soc. Japan* **51** (2): 127–130, March 2000

ジョウザンシジミ越冬蛹の耐寒性

星川　和夫

690-8504　松江市西川津 1060　島根大学生物資源科学部生態環境科学科

Cold resistance in hibernating pupae of *Scolitantides orion* (Pallas) (Lepidoptera, Lycaenidae)

Kazuo HOSHIKAWA

Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University, Matsue, 690-8504 Japan

Abstract Hibernating pupae of *Scolitantides orion* were susceptible to freezing. They supercooled down to −29°C, avoided freezing by ice inoculation, and contained 17 mg/g body weight of trehalose in midwinter, which might derive from glucose precursory accumulated to a level of 25 mg/g.

Key words *Scolitantides*, Lycaenidae, hibernation, cold resistance, trehalose.

はじめに

日本産蝶類のなかで耐寒性が調べられている種類は 20 種に満たず (朝比奈, 1991), シジミチョウ科については全く知見がない．蝶類には材料入手の困難な種も含まれるが，各種の地理分布の状況が正確に把握できる数少ない昆虫分類群である．耐寒性のみにより現在の分布北限を説明できる事例はほとんどないにしても，現生の種が示す耐寒性はその種の過去を反映しているであろうから，ほとんどの蝶の耐寒性が把握できた暁には，生物地理学的に興味深い比較研究が可能になるかも知れない．

1985 年，筆者はジョウザンシジミ幼虫の摂食習性を観察する目的で飼育を行った．本種の寄主であるベンケイソウ科の植物は CAM 型光合成を行うので，葉の pH が日周的に変化する．寄主側のこの変化が本種幼虫の摂食活動に及ぼす影響を調べるために摂食行動の日周変化を観察した．その結果，幼虫 (1 齢，2 齢) の摂食活動に日周性は認められず，本来の目的はネガティブな結果となったが，多数の休眠蛹が得られた．それらを用いて本種の耐寒性を調べたので，ここに報告する．

材料と方法

ジョウザンシジミ 2 雌を 1985 年 5 月 21 日札幌市八剣山より採集し，5 月 21–22 日にかけて 51 卵 (産卵部位: 葉茎分岐部 23，葉裏 15，茎 9，その他 4) 採卵した．これらは 5 月 27–28 日にかけて孵化．鉢植えにしたキリンソウ株上で札幌市の自然日長・自然温度条件下で飼育し，6 月 2–4 日 2 齢，6–8 日 3 齢，11–13 日 4 齢と経過し，6 月 22–25 日にかけて蛹化し，41 蛹を得た．これらのうち 14 個体 (34%) は 7 月 3–6 日に羽化した．残り 27 蛹は 10 月 14 日まで同条件下に放置し，羽化していないことを確認後 4°C 暗条件下に保存した．この 27 個体の休眠蛹を用いて耐寒性を調査した．なお，飼育は札幌市における開放室温条件 (16–29°C) で行い，経過日数は卵期 6 日，1 齢 7 日，2 齢 4 日，3 齢 5 日，4 齢 11 日，蛹期 (非休眠) 11 日であった．

耐寒性に関わる項目として，過冷却点，植氷凍結点，耐凍性，糖含有量を測定した．過冷却点，植氷凍結点はそれぞれ乾燥した環境，湿潤な環境で虫体が凍結を開始する温度を，また耐凍性は凍結後の生存の可否を示す．過冷却点と植氷凍結点は，前報 (Hoshikawa, 1996) 同様，銅-コンスタンタン熱電対を用いて記録した凍結曲線から決定した．耐凍性は過冷却点を記録した蛹の一部をそのまま −17°C，+4°C，+22°C に保存し，1 月後に +22°C に移して羽化するかどうかを，同様に処理した未凍

Table 1. Seasonal changes in supercooling points (SCP) and sugar contents in hibernating pupae of *Scolitantides orion*. Individuals reared under natural conditions of Sapporo were kept at 4°C since October 14, 1985. Values are mean±SD.

Date	No. pupae	SCP (−°C)	Body weight (mg)	Sugar contents (mg/g body weight)			
				Glucose	Trehalose	Unknown*	Total
Oct. 14	3	28.8±0.7	59.4±2.3	25.4±4.6	4.1±0.9	3.9±1.3	34.0±2.4
Nov. 4	3	28.3±1.7	62.5±0.8	9.2±2.1	16.3±3.4	3.3±0.6	29.1±4.6
Dec. 18	3	29.9±1.2	49.9±9.0	9.6±1.6	17.9±2.3	3.0±0.7	31.0±0.2
Dec. 30	6	28.4±1.2	—	—	—	—	—
Feb. 8	2	27.5±0.6	43.7±7.9	22.7±4.1	3.3±3.2	2.4±0.3	28.6±1.3

* Unidentified substance(s) of which TMS (trimethylsilylated) derivatives show retention times similar to TMS-sucrose.

結の蛹と比較して判断した．休眠蛹の糖含有量は Shimada *et al.* (1984) の方法に準じてガスクロマトグラフィ (島津 GC-4CMPF) により定量した．

結果および考察

得られた結果を Table 1 に要約した．

ジョウザンシジミ越冬蛹は−28-29°C まで過冷却する能力を少なくとも 10 月中旬から 2 月上旬の間維持していた．12 月 30 日の凍結処理では蛹を濡らした脱脂綿でくるんで冷却したが，得られた過冷却点は通常の方法で冷却された他の月のサンプルと全く差がなく，植氷凍結は完全に回避された．この 6 個体は一度ゆっくりと解凍した後，1 月間，−17，+4，+22°C に各 2 個体ずつ保存し，その後 120 日間+22°C においたが，いずれの個体も羽化せず死亡した．一方，対照区として同様の温度処理を施した未凍結の 10 個体は，−17°C に 1 月間曝した 3 個体も含め，実験期間中に全ての個体が羽化した (Table 2)．このことから，本種に耐凍性はないと考えられる．しかし本種の蛹は枯葉中など地表面で越冬するので，野外で経験する最低温度は最低気温よりもかなり高いはずであり，−30°C に近い過冷却能力と完全な植氷凍結回避能力から，本種は永久凍土帯の一部を除く世界の温帯・寒帯のほとんどの地域で越冬が可能な耐寒性を備えていると判断される．

蛹体重は，この保存条件 (4°C) では 12 月から減少しはじめた．越冬期間中，より顕著な変化が糖組成に観察された．全糖量は 34 mg/g から 29 mg/g と緩慢に減少したが，その構成成分は置き換わっていた (Fig. 1A)．10 月中旬に 4°C に保存すると，半月以内にトレハロースが約 4 倍になり，その分だけグルコースが減少した．しかし，蛹は同じ 4°C に置かれ続けていたにもかかわらず，2 月上旬には低温保存前と類似した糖組成にもどった (Table 1, Fig. 1A)．この変化は以下の 2 点において注目され

Table 2. Emergence of frozen or unfrozen pupae of *Scolitantides orion* under various temperatures. Diapausing pupae were kept at 4°C during Oct. 14 to Dec. 30, 1985. A part of the pupae was frozen on Dec. 30 (Table 1). Frozen and unfrozen pupae were kept in various temperatures and incubated at 22°C.

Temperature (°C)		No. individuals emerged/examined		Date of emergence in unfrozen pupa female/male	Incubating period (days) at 22°C till emergence
from Dec. 30 to Jan. 29	Jan. 29 May 29	Frozen	Unfrozen		
−17	+22	0/2	3/3	Feb. 20/Feb. 15, 21	17, 22, 23
+4	+22	0/2	3/3	Feb. 11, 13/Feb. 11	13, 13, 15
+22	+22	0/2	4/4	Jan. 28/Jan. 24, 28, Feb. 5	26, 30, 30, 38
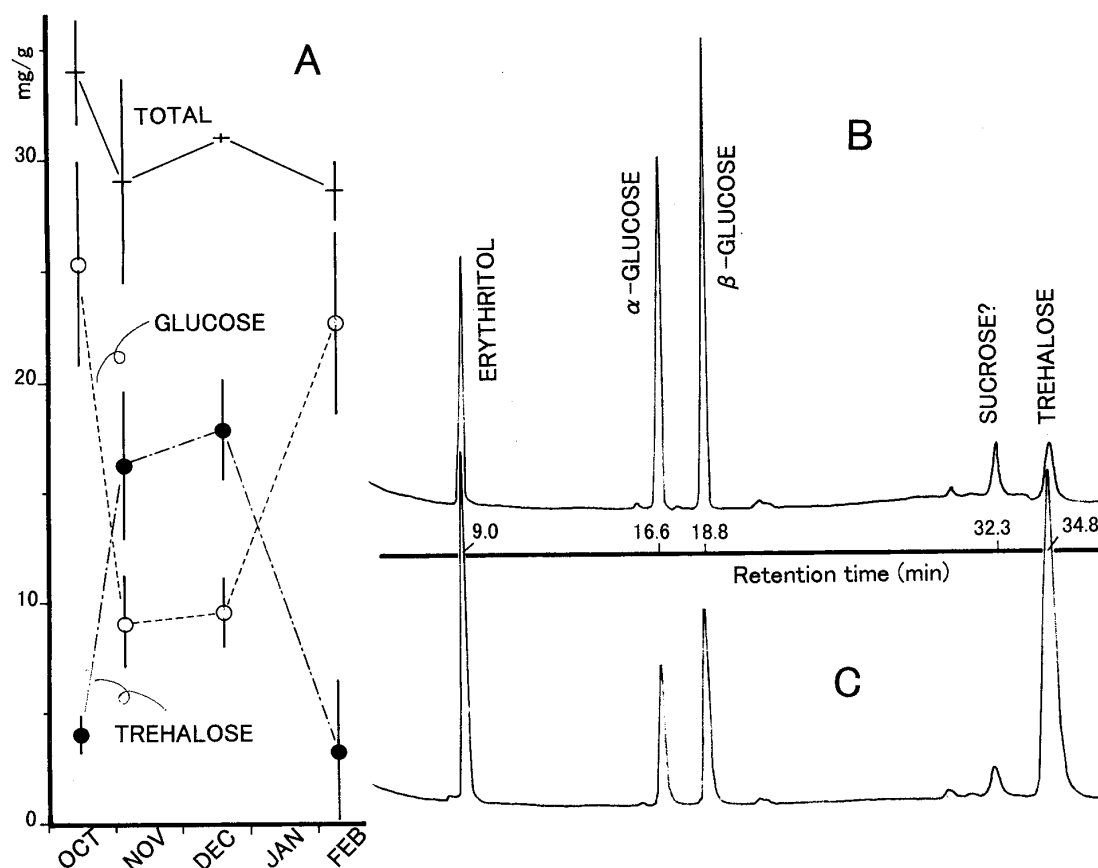
Fig. 1. A: Seasonal changes in sugar contents of hibernating pupae in *Scolitantides orion*. Vertical bars indicate standard deviations. B and C: representative gas-chromatograms for trimethylsilylated derivatives of extraction from the pupa in October (B), and in December (C). Chromatographed using a glass column packed with OV-1 on chromosorb W, 130–270°C at 5°C/min. Erythritol is an internal standard artificially added for determination.

る:

1) 越冬期にトレハロースを蓄積する昆虫の場合，一般に，トレハロースは脂肪体中のグリコゲンに由来する．低温を経験した昆虫がグリコゲンからトレハロースを代謝するしくみは，グリコゲンホスホリラーゼとグリコゲンシンターゼの温度に依存した活性変化により，詳細に説明されている (Hayakawa and Chino, 1981, 1982; Hayakawa, 1985). しかし本種の場合，Fig. 1A に示すように，グルコース量とトレハロース量はミラー・イメージで変動しており，量的な変化をみるかぎりトレハロースは体液中のグルコースから合成された可能性が高い．本種でグリコゲン量がどのように変動しているか興味深いが，残念ながら測定されていない．なお，越冬に際し体液中にグルコースを蓄積する例は一般的ではなく，Zachriassen (1985) が数例をあげているにとどまる．筆者 (未発表) も 2, 3 の種で確認しているにすぎない．いずれも鱗翅類である．

2) 2 月にトレハロースが減少しグルコースが増加したことは，同一の低温保存条件下にも関わらず休眠蛹が自発的に覚醒し，代謝が進行したことを示唆している．事実，1 月まで 4°C 以下に蛹を置くと，22°C に移してから羽化までの期間はかなり短縮された (Table 2). このことは，本種の春型が長期間にわたり羽化するという採集経験 (福田ら，1984: 259) と整合しない．しかし，無積雪期におけるリター層の温度は日射条件によって著しく変化する (Hoshikawa, 1981) ので，越冬場所のわずかな違いによって，早春の羽化時期がかなり異なるのかもしれない．

文　献

朝比奈英三, 1991. 虫たちの越冬戦略. 161, 20 pp. 北大図書刊行会, 札幌.

福田晴夫・浜　栄一・葛谷　健・高橋　昭・高橋真弓・田中　蕃・田中　洋・若林守男・渡辺康之, 1984. シジミチョウ科. 原色日本蝶類生態図鑑 **3**: i-xxii, 73-373, pls 1-72. 保育社, 大阪.

Hayakawa, Y., 1985. Activation mechanism of insect fat body phosphorylase by cold. *Insect Biochem.* **15**: 123-128.

Hayakawa, Y. and H. Chino, 1981. Temperature-dependent interconversion between glycogen and trehalose in diapausing pupae of *Philosamia cynthia ricini and pryeri*. *Insect Biochem.* **11**: 43-47.

———, 1982. Temperature-dependent activation or inactivation of glycogen phosphorylase and synthase of fat body of the silkworm *Philosamia cynthia*: The possible mechanism of the temperature-dependent interconversion between glycogen and trehalose. *Insect Biochem.* **12**: 361-366.

Hoshikawa, K., 1981. Notes on adult hibernation of *Epilachna admirabilis*, with special reference to comparison with larval hibernation (Coleoptera: Coccinellidae). *Low Temp. Sci.* (Ser. B) **39**: 9-20.

———, 1996. Ice-inoculation avoidance in hibernating larva of *Apatura metis* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Trans. lepid. Soc. Japan* **47**: 278-284.

Shimada, K., Sakagami, Sh. F., Honma, K. and T. Tsutsui, 1984. Seasonal changes of glycogen/trehalose contents, supercooling point and survival rate in mature larvae of the overwintering soybean pod borer *Legminivola glycinoivorella*. *J. Insect Physiol.* **30**: 369-373.

Zachariassen, K. E., 1985. Physiology of cold tolerance of insects. *Physiol. Reviews* **65**: 799-832.

Summary

Larvae of *Scolitantides orion* (Pallas) were reared with *Sedum Aizoon* L. under the natural temperature and photoperiod condition of Sapporo. Fourteen out of 41 pupae emerged in early July. The rest, 27 diapausing pupae were kept at 4°C on October 14, 1985, and subjected to analysis of cold resistance. The pupae avoided ice-inoculative freezing and supercooled down to −29°C. The species was freezing susceptible, as none of 6 frozen pupae emerged after thawing. All of 10 unfrozen pupae, in contrast, emerged normally despite that a part of them was exposed to −17°C for one month. Total sugars in hibernating pupae were *ca* 30 mg/g body weight, and changed seasonally in content. A part of glucose accumulated converted to trehalose when the pupa was cooled, while reverse conversion occurred around January spontaneously. This mirror image change between amount of glucose and trehalose suggests that the trehalose might derive from the glucose, but not from glycogen in fat body.

(Accepted January 14, 2000)

Published by the Lepidopterological Society of Japan,
5-20, Motoyokoyama 2, Hachioji, Tokyo, 192-0063 Japan